高反应与低反应猴在诱发动脉粥样硬化过程中血脂改变规律的观察

刘超然 陈国珍 李运珊 陈隆顺
（昆明医学院心血管病基础理论研究组）
唐朝才 张志雄
（云南热带作物研究所）

关键词 猴 动脉粥样硬化 高反应猴 低反应猴 血脂

喂饲高脂高胆固醇饮食是诱发实验性动脉粥样硬化（简称AS)的基本方法。在诱发AS过程中，血清脂质的改变不但有种属差异，也存在个体反应性的差异。猴是用于AS研究最理想的实验动物。喂以高胆固醇饮食后，有些猴血清胆固醇上升速度明显高于一般同种猴，称高反应猴（High-responding rhesus monkey），另一些猴的血清胆固醇上升十分缓慢，低于同种猴的一般反应速度，称低反应猴（Low-responding rhesus monkey）。关于高反应猴（简称HI）及低反应猴（简称LO）在诱发AS过程中血清胆固醇反应的差别，国外已有报道。（Baker *et al*., 1981; Bhattacharyya *et al*., 1977; Bhattacharyya *et al*., 1981; Eggen, 1976; Rudel, 1976）。文献中尚未见关于HI及LO猴血清总脂、磷脂、游离脂肪酸及脂蛋白分布改变的观察，现将我们在诱发猴AS过程中所得的结果报告于后。

实验方法

选用健康猕猴22只，年龄4.5—8岁，平均6.3岁，其中雄猴18只，雌猴4只。经常规检疫，分笼普食喂养3个月后，测定各项血脂正常值。用含胆固醇0.6%、蛋黄6.6%、猪油6.6%、蔗糖10.5%、麦麸粉6.6%、玉米粉16.4%及面粉52.6%的混合饲料，烤成饼后进行饲养。自由饮水，每周补充适量水果，造型时间一年。每月由前肢静脉取血（禁食14小时），测定血清总胆固醇（硫磷铁法）、高密度脂蛋白一胆固醇(磷钨酸钠法)、游离胆固醇（毛地黄皂苷沉淀法）、甘油三脂（乙脂丙酮显色法）。每二月测定总脂（比色法）、磷脂（硫酸亚铁显色法）及游离脂肪酸（一次抽提比色法）。用苏丹黑预

本文1984年5月12日收到，1984年12月22日收到修改稿。

染琼脂糖凝胶电泳法进行脂蛋白电泳。根据测定数值，计算胆固醇脂（CE）、低密度脂蛋白—胆固醇（LDLc）、极低密度脂蛋白—胆固醇（VLDLc）*、高密度脂蛋白—胆固醇/总胆固醇（HDLc/Tc）比值、高密度脂蛋白—胆固醇/低密度脂蛋白—胆固醇（HDLc/LDLc）比值、低密度脂蛋白—胆固醇／总胆固醇（LDLc/Tc）比值，以及LDLc/HDLc比值等。

实 验 结 果

造型11.5个月后，22只猴血清总胆固醇升至128—522mg/dl，平均为324±159mg/dl。其中5只（22.7%）猴血清胆固醇反应最高，由造型前的104±20mg/dl升高至421—522mg/dl，平均为457.8±43mg/dl，为高反应猴。另5只猴血清胆固醇反应最低，由造型前的100±12mg/dl升至128—189mg/dl，平均为160±24mg/dl，为低反应猴。全部动物均经病理解剖证实：主动脉及冠状动脉均已发生动脉粥样硬化病变。一般HI猴的病变较LO猴为重、详细情况将另文讨论。这里将HI猴与LO猴血脂改变情况对比分析如下。

血清胆固醇的改变（见表1）

表1 HI猴与LO猴造型过程中血清胆固醇的改变M±SD（mg/dl）

造型时间（月）	总胆固醇		游离胆固醇		胆固醇脂	
	HI组	LO组	HI组	LO组	HI组	LO组
0	140±20	100±12	36±7	46±10	67.8	54.8
2	274±89	185±23	81±18	67±11	193.6	118.6
4	369±100	196±23	109±21	76±16	260.4	119.8
6	353±140	170±77	90±28	46±15	263.0	123.8
8	422±153	173±47	92±26	47±7	330.2	126.6
10	520±77	248±31	101±42	35±4	419.5	213.4
12	457±43	166±24				

由表1可见，在造型过程中，两组猴均发生了不同程度的高胆固醇血症。但由高胆固醇饮食所诱发的血清胆固醇改变的程度，则HI组与LO组有明显差异。HI组血清总胆固醇和胆固醇脂均随造型时间延长不断上升，直至造型10月。游离胆固醇也一直高于造型前水平。LO组在造型后，血清总胆固醇与胆固醇脂上升缓慢，整个造型期均明显低于HI组（$P<0.01$）。游离胆固醇只在造型2—4月时略有升高，以后回到原水平。上述结果提示，HI及LO猴胆固醇代谢存在一定差异。

* 依Friedewald氏方法计算，见Friedewald. W. T *et, al*; 1972 Clin. Chem. 18:499

血清甘油三脂的改变（见表2）

表2　HI及LO猴血清甘油三脂的改变M±SD（mg/dl）

造型时间（月）	HI组	LO组
0	108±75	87±31
2	149±48	165±34
4	66±17	65±31
6	74±43	60±15
8	122±81	178±141
10	58±9	49±40
12	62±38	106±81

由表2可见，两组猴的血清甘油三脂的改变大致相近，均在造型2个月和8个月时出现一次升高，呈明显波动。两次上升出现在冬春之交及秋夏之交，是否与季节影响有关，有待进一步研究。

血清总脂、磷脂和游离脂肪酸的改变（见表3）

表3　HI与LO组猴血清总脂、磷脂及游离脂肪酸改变（M±SD）

造型时间（月）	总脂（mg/dl）		磷脂（mg/dl）		游离脂肪酸（mgE/L）	
	HI组	LO组	HI组	LO组	HI组	LO组
0	583±160	586±147	139±42	148±49	361±261	462±250
2	657±96	552±41	142±25	134±29	239±127	361±153
4	1000±202	569±145	289±46	256±67	313±224	301±113
6	1149±323	724±84	204±45	121±33	271±165	363±103
8	1297±297	832±156	162±46	137±21	342±61	201±82
10	1468±310	710±129	301±41	171±28	131±28	208±67

由表3可见：HI猴血清总脂在造型过程中呈直线上升，造型结束时、其浓度升至造型前2.5倍；LO组猴在造型10个月中血清总脂也略有升高，但上升幅度小，两组间相差显著。两组猴血清磷脂均在造型4个月及10个月出现两个高峰，但HI猴一直维持在高于造型前的水平。而LO组除4、10月高于造型前水平外，均降至造型前水平以下。造型后两组猴的游离脂肪酸均呈下降倾向，未见规律性差异。上述结果提示，血清总脂改变的差异，主要由于两组猴血清胆固醇的差异所致，磷脂改变的差异可能是次要原因之一。这些结果提示，测定血清总脂可能和测定血清总胆固醇一样，是一项有助于区别HI和LO猴的指标。

脂蛋白电泳的改变（见表4）

表4 HI与LO猴造型过程中血清脂蛋白电泳的改变（%）

造型时间（月）	α—脂蛋白		前β—脂蛋白		β—脂蛋白	
	HI组	LO组	HI组	LO组	HI组	LO组
0	49.6	41.0	17.6	19.9	32.8	39.1
2	18.5	30.2	9.4	11.5	71.8	58.3
4	20.3	43.8	12.5	17.7	67.2	38.4
6	18.8	36.0	18.6	15.2	62.5	48.6
8	24.2	39.3	14.9	11.1	61.1	49.7
10	18.1	38.1	21.8	18.7	60.2	43.3

由表4可见：HI猴造型期间α—脂蛋白持续降低，β—脂蛋白明显增加，前β—蛋白变化不明显。LO组在造型过程中，虽然脂蛋白的分布有所改变，程度较轻，且始终接近造型前的水平。

各种脂蛋白中胆固醇含量的改变（见表5）

表5 HI与LO组猴各种脂蛋白中胆固醇含量改变M±SD（mg/dl）

造型时间（月）	HDLc		LDLc		VLDLc	
	HI组	LO组	HI组	LO组	HI组	LO组
0	79.4	64.0	57.4	80.4	21.6	17.2
2	71.0	81.0	235.8	108.8	29.8	33.0
4	82.4	111.2	302.8	88.2	13.8	13.0
6	73.4	97.8	302.7	125.0	14.8	12.0
8	67.8	87.4	405.2	74.4	24.6	35.6
10	67.3	90.4	404.5	100.4	11.5	9.8
12	51.8	79.7	504.5	107.4	12.3	21.6

由表5可见：HI组的LDLc随造型时间延长不断上升，至造型结束时已达造型前水平8倍以上；其HDLc则逐渐下降，一直低于原水平。LO组的LDLc在整个造型过程中上升较少，未超过造型前的1倍，但HDLc则一直高于造型前水平。两组猴的VLDLc均在基础水平范围内波动。

各种脂蛋白之间比值的改变（见表6）

由表6可见：HI猴的HDLc/Tc、HDLc/LDLc及HDLc/LDLc+VLDLc三种比值，均自造型第二个月起明显下降，造型时间越长下降程度越大。而LDLc/Tc、及

表 6　　HI及LO组猴各种脂蛋白比值的改变（M±SD）

测定时间（月）	HDLc/Tc		HDLc/LDLc		HDLc/LDLc+VLDLc		LDLc/Tc		LDLc/HDLc	
	HI组	LO组	HI组	LO组	HI组	LO组	HI组	LO组	HI组	LO组
0	0.53±0.23	0.41±0.20	1.07±0.36	1.48±1.98	2.36±3.43	1.22±1.17	0.62±0.74	0.49±0.21	1.02±0.26	1.69±1.24
2	△0.23±0.12	0.36±0.08	0.40±0.30	0.79±0.31	0.33±0.23	0.59±0.19	△0.67±0.15	0.49±0.10	△3.64±1.97	1.44±0.59
4	*0.21±0.06	0.52±0.10	*0.27±0.11	1.35±0.55	*0.26±0.10	1.16±0.44	*0.76±0.07	0.42±0.10	*4.25±1.92	0.86±0.37
6	0.20±0.11	0.49±0.26	0.28±0.22	2.44±2.28	△0.26±0.21	1.58±1.71	△0.76±0.11	0.44±0.28	*6.26±4.35	1.71±2.17
8	*0.16±0.08	0.44±0.11	*0.22±0.12	1.17±0.15	*0.20±0.12	0.82±0.30	*0.78±0.10	0.37±0.07	*6.41±4.20	0.87±0.11
10	*0.14±0.04	0.45±0.14	△0.17±0.06	1.13±0.77	△0.17±0.06	0.92±0.51	*0.83±0.05	0.50±0.17	*6.35±2.36	1.26±0.70
12	*0.09±0.03	0.39±0.10	△0.10±0.01	0.96±0.69	*0.10±0.05	0.69±0.33	*0.88±0.02	0.51±0.16	*9.71±0.52	1.37±0.62

△=$p<0.05$　　*=$p<0.01$

LDLc/HDLc的比值则随造型时间的延长而进行性升高。LO猴这些比值变化与 HI 猴的规律类似，但自造型 2 月起，两组之间多数指标变化的程度有显著差异（$p<0.05$），4 个月以后则全部指标均有显著差异。

讨　论

关于高脂高胆固醇饮食引起血清胆固醇反应的个体差异，出现高反应与低反应猴，Eggen（1976）首先在猕猴上报告。Bhatlacharryya等（1977）也报告用40%饱和脂肪和1mg/Cal胆固醇喂养36只猕猴造型一年时，血清胆固醇的个体差异为 151—721mg/dl。其中HI猴 6 只（占16.6%）血清胆固醇为567—721mg/dl，平均为 619mg/dl。LO猴 6 只，血清胆固醇为151—230mg/dl，平均为199mg/dl。也有关于松鼠猴（*Saimiri siureus*）及 *Cebus* monkey的类似报道。文献中关于HI与LO猴在 AS 造型中血清脂蛋白分布改变的材料不多，且不十分全面。Baker等（1981）报告HI猴在AS造型过程中HDLc下降 45%（由84降至47mg/dl），LO猴则增加35%（由74增至104mg/dl）。Lofland等也报道过类似结果。我们的结果与上述报告相近，HI猴的HDLc由造型前79.4mg/dl降至51.8mg/dl，平均下降 34.8%；LO 猴则由 64.0mg/dl升至79.7mg/dl，平均上升 19.7%。Baker 等（1981）认为HI猴的HDLc下降与HDL_2（d＝1.08～1.125g/ml）有关。而HDL_2下降是AS的危险因素之一。

本研究的结果说明，HI及LO猴进食高胆固醇饮食后，除血清总胆固醇及HDLc改变有明显差异外，其总脂、胆固醇脂、各种脂蛋白水平、脂蛋白中胆固醇含量及其相互之间的比值均有明显差异。首次报告了国产猕猴中HI与LO猴进食高胆固醇饮食后各项血清脂质的变化规律。这些指标的综合，比单纯测定血清总胆固醇或/和HDLc更能反应HI与LO猴的差异。因此我们认为，在给猴高胆固醇饮食2个月后，进行上述多项血脂指标测定，是识别HI与LO猴的可靠方法。若总胆固醇、脂化胆固醇、LDLc、总脂、β-脂蛋白含量及LDLc/HDLc比值明显升高；α-脂蛋白、HDLc/Tc及HDLc/LDLc比值明显降低，则为HI猴。若上述指标无明显改变，则为LO猴。这对比较准确地选择动物进行AS研究具有重要参考价值。如果不能测定上述各项指标，至少应测定总胆固醇和HDLc并计算HDLc/Tc比值，作为选择动物的依据。此外，本实验结果也有助于说明人类食入高胆固醇饮食后，部分人血脂升高明显，而另一部份人却无甚反应的现象。

关于猕猴食入胆固醇饮食后出现高反应和低反应两种不同反应的机理，目前正在研究中。Lofland等认为可能与HDL的作用有关；Bhattacharryya等（1977）则认为，肠道对胆固醇的吸收率不同，可能是HI和LO猴血清胆固醇反应不同的主要原因。我们对猕猴进行胆固醇耐量试验时，曾以20毫升猪油加2克胆固醇分别给HI和LO猴灌胃，测定灌胃前及灌胃后1、2、4、8小时血清胆固醇含量。1只HI猴灌胃后8小时血清胆固醇比原水平增加14%；而另一只LO猴只增加7%。这提示我们：肠道对胆固醇吸收率不同，可能是HI猴和LO猴血清胆固醇反应不同的原因。Clarkson等（1971）对松鼠猴的HI与LO猴进行遗传学的研究。认为松鼠猴食用胆固醇饮食引起的血脂反应不同，65%是由于遗传因素。最近已确认LDL受体途径在脂代谢中起重要作用。猴和人类对摄入胆固醇后所出现的个体差异。从局部上可认为是遗传或内分泌等因素对LDL受体数量的调节。能产生更多LDL受体的人或动物、摄入胆固醇后其血清胆固醇不升高。反之，则升高明显。本文所提出的区别HI和LO猴的指标，有助于预测人对食物中胆固醇的敏感性，从而制定出个体化的预防AS的方案，值得进一步研究。

参 考 文 献

Baker, H. N. *et, al.* 1981 Divergent response of HDL in hyper and hypo-responding Rhesus monkeys observed after increased dietary cholesterol intake. Circulation 64 Suppl. 59

Bhattacharryya, A. K. *et, al.* 1977 Cholesterol metabolism in high-and low-responding Rhesus monkeys. Atherosclerosis 4:293—298

Bhattacharyya, A. K. *et, al.* 1981 Feedback regulation of cholesterol biosynthesis in Rhesus monkeys with variable hypercholester-olemic response to dietary cholesterol. *J. Lipid Res.* 22:16—23

Bhattacharyya, A. K. *et, al.* 1981 Cholesterol obsorption and turnover in Rhesus monkeys as measured by two methods. *Nutr, Abst. Rev.* 52:40

Clarkson, T. B. *et, al.* 1971 Genetic control of plasma cholesterol, Studies on Squirrel monkeys. *Arch. Path.* 92:37—45

Clarkson, T. B. *et, al.* 1976 Atherosclerosis in new world monkeys. *Prim. Med.* 9:90—100

Eggen, D. A. 1976 Cholesterol metabolism in nonhuman primates *Prim. Med.* 9:267—299

Rudel, L. L. and H. B. Lofland 1976 Circulating lipoproteins in nonhuman primates. *Prim. Med.* 9:224—266

THE OBSERVATION OF ALTERATIONS OF SERUM LIPID IN HIGH AND LOW RESPONDING RHESUS MONKEYS DURING INDUCED ATHEROSCLEROSIS PEROID

Liu Chaoran Chen Guozhen *et al.*

(Kunming Medical College)

The response of serum cholesterol todietary cholesterol varies not only among species of animals but also among individuals of the same species. The Rhesus monkey is no exception to this phenomenon. When we fed high-fat, high-cholesterol diet to 22 young Rhesus monkeys, they developed hypercholesterolemia with large variability. The mean serum cholesterol for the 22 animals was 324 ± 159mg/dl, whereas the mean for individual animal rang from 128 to 522mg/dl. From the 22 animals referred to above, the five with highest serum cholesterol (rang 421—522mg/dl, mean 457mg/dl) and five with lowest (rang 128—189mg/dl, mean 160mg/dl) were selected for the study and were referred to here as the high-responding (HI) and low-responding monkeys.

The mean serum cholesterol, cholesterol ester, tolal fat concentrations were statistically signifficantly greater in the HI group campared with the LO group during the high-cholesterol diatary peroid. The mean high density lipoprotein (HDLc) concentrations in HI group were decreased continuously while the HDLc in LO group were increased instead during this period. The mean serum phospholipid, free fatty acid and triglycerol concentrations were similar in HI and LO groups. The rates of LDLc/TC and LDLc/HDLc were greater in HI group than in LO group, but the rates of HDLc/TC, and HDLc/LDLc were greater in LO group than in HI group instead. It is possible that we might divide the HI group from the LO group if we assaied these serum lipids after two months of high-cholesterol diet.

The mechanisms underlying this large differential response of the serum cholesterol to dietary cholesterol had been discussed.

Key words Rhesus monkey Atherosclerosis High-responding monkey Low-responding monkey Serum lipid